Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut der
Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. Beller

STANFORD UNIVER
AUG
23
193
LIBRA

Die Beeinflussung der Antikörperbildung durch die intrakutane Tuberkulinisierung und ihre Bedeutung für den Tuberkulosenachweis.

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Veterinär-medizinischen Fakultät

der

Hessischen Ludwigs-Universität zu Gießen

vorgelegt von

Johannes Bernhardt
approbierter Tierarzt
aus Frankfurt-Main.

Gießen 1937

Buchdruckerei Heinz Meyer, Gießen, Ludwigstraße 30

Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut der
Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. Beller

Die Beeinflussung der Antikörperbildung durch die intrakutane Tuberkulinisierung und ihre Bedeutung für den Tuberkulosenachweis.

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Veterinär-medizinischen Fakultät

der

Hessischen Ludwigs-Universität zu Gießen

vorgelegt von

Johannes Bernhardt
approbierter Tierarzt
aus Frankfurt-Main.

Gießen 1937

Buchdruckerei Heinz Meyer, Gießen, Ludwigstraße 30

Gedruckt mit Genehmigung der veterinär-medizinischen
Fakultät zu Gießen.

Referenten: Professor Dr. Beller
Professor Dr. Standfuß.

Inhaltsverzeichnis.

I. Einleitung 4
II. Schrifttum 6
III. Eigene Versuche 13
a) Versuchstechnik 13
b) Untersuchungen von Rindern in verschiedenen Beständen 17
c) Untersuchungen von Schlachtrindern 26
IV. Zusammenfassung der Ergebnisse 29
V. Schlußsätze 33
VI. Autorenverzeichnis 34

I. Einleitung.

Im Kampf gegen die Tuberkulose des Rindes werden in Zukunft alle diagnostischen Methoden herangezogen werden müssen. Insbesondere wird der Tuberkulinisierung der Rinder eine weit größere Bedeutung zukommen als bisher. Zusammen mit den allergischen Proben werden aber auch die serologischen Methoden bei der Schaffung tuberkulosefreier Bestände in erhöhtem Maße zur Erkennung der Krankheit beitragen.

Es ist nun festgestellt worden, daß die parenterale subkutane Einverleibung von Tuberkulin bisweilen Antikörperbildung auslöst. Dadurch wird eine nachfolgende serologische Blutuntersuchung insofern beeinflußt, als durch die Bildung derartiger Antikörper das Vorliegen bestimmter, serologisch erfaßbarer, d. h. vor allem generalisierter Formen von Tuberkulose vorgetäuscht oder infolge Aktivierung der vielleicht bereits zur Ruhe gekommenen Antikörperbildung bei ausgesprochenem chronischem Verlauf der Erkrankung erst ermittelt wird. Dies wäre von praktischer Bedeutung insbesondere dann, wenn die allergische Untersuchung das Fehlen einer Ueberempfindlichkeit gegen Tuberkulin, vielleicht sogar eine gänzliche Unempfindlichkeit trotz Vorhandenseins klinischer Merkmale oder doch zumindest des Verdachts der Tuberkulose ergibt.

Ungeklärt ist noch die Frage, ob eine derartige Beeinflussung der Antikörperbildung auch durch die bei der intrakutanen Methode gebräuchliche sehr geringe Menge von 0,1 ccm des 50 % verdünnten Tuberkulins von der Haut aus möglich ist. Lediglich der französische Autor *Panisset* hat über solche an nur drei Rindern vorgenommene Versuche berichtet.

Es wurde mir daher von Herrn Professor Beller die Aufgabe gestellt, zur Klärung dieser Frage beizutragen. Gleichzeitig verglich ich den Ausfall der Ergebnisse der kulturellen Methode des Bakteriennachweises mit dem mit Hilfe des Tierversuchs erhaltenen in Fortsetzung von Versuchen, über die *Witte* (1935) bereits aus-

führlich berichtet hatte. Da dieser Teil meiner Untersuchungen nicht unmittelbar zu dem mir gestellten Thema gehört, verweise ich bezüglich der Vorgänge auf den genannten, vor der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Aerzte 1936 in Dresden gegebenen Bericht und gehe deshalb auch auf diese Frage in der anschließenden Literaturbesprechung nicht näher ein.

II. Schrifttum.

Die Beeinflussung der Antikörperbildung durch Tuberkuline wurde meist im Zusammenhang mit Versuchen bemerkt, die das Ziel hatten, entweder Tiere oder Menschen zu immunisieren oder Beziehungen zwischen Antikörperbildung und Allergie festzustellen.

So haben schon *Wassermann* und *Bruck* (1906) erkannt, daß spezifische Ambozeptoren hauptsächlich im Blutserum von mit Tuberkulin behandelten tuberkulösen Patienten nachzuweisen sind, während bei unbehandelten Kranken nur selten solche Antikörper auftraten.

Diese Ergebnisse hat *Citron* (1907) bestätigt, indem er das Auftreten von Antikörpern im Serum von solchen Patienten beobachtete, die ihre Reaktionsfähigkeit gegenüber dem Tuberkulin während der Tuberkulinbehandlung verloren hatten. Bei fünf von 6 Fällen, bei denen nach der Tuberkulinbehandlung keine Antikörper im Blutserum auftraten, war die Reaktionsfähigkeit der Kranken nicht erloschen. Als Tuberkulin verwandte *Citron* Neu- und Alttuberkulin.

Ruppel und *Rickmann* (1910) stellten ein Immunserum her, das spezifische Antikörper enthielt. Hierbei wurden Maultiere, Rinder und Pferde erst durch eine vorausgehende intravenöse Injektion artfremder Tuberkelbakterien tuberkulinunempfindlich gemacht und anschließend die Bildung von Antikörpern durch systematische Einverleibung von Tuberkulin ausgelöst. Sie benutzten hierzu Alttuberkulin, glyzerinfreies Trockentuberkulin, einen wässerigen Extrakt aus zerriebenen, unveränderten Tuberkelbakterien, ferner lebende artfremde und für die betreffende Tierart spezifische Tuberkelbakterien.

Möllers (1912) weist in seinem Referat zunächst darauf hin, daß es bei mit Tuberkulose infizierten Versuchstieren leicht sei, durch *intravenöse* Injektion von Tuberkulinpräparaten Antikörper gegen Tuberkulose zu erzeugen. Durch wiederholte Injektion hat er die Menge der Antikörper, die gewöhnlich schon nach der ersten

Injektion auftraten, noch verstärken können. Bei gesunden Kaninchen war jedoch eine wiederholte Injektion toter Tuberkelbakterien notwendig, um die Tiere so umzustimmen, daß sie auf eine nachfolgende Tuberkulininjektion mit Antikörperbildung reagierten. Die Fähigkeit, Antikörper zu erzeugen, ist nicht bei allen Tuberkulinen die gleiche. *Möllers* nennt an erster Stelle Tuberkuline aus Vollbakterien, die in ihrer Form noch erhalten sind, dann Bakterienemulsionen, die aus zerriebenen Tuberkelbakterien bestehen, und zuletzt die nach Art des Alttuberkulins aus Kulturflüssigkeit hergestellten Tuberkuline.

In Uebertragung des Ergebnisses dieser Untersuchungen auf den Menschen injizierte *Möllers* Tuberkulosekranken in steigenden Dosen von 0,00025 mg bis 1 mg intravenös Lösungen von Tuberkelbakterien, die vorher erhitzt und auf ihre Verträglichkeit im Tierversuch geprüft waren. So konnte er auch bei kranken Menschen eine künstliche Steigerung des Antikörpergehaltes beobachten.

Die gleichen Ergebnisse waren bei Tieren und Menschen durch subkutane Injektion der verschiedenen Tuberkulinpräparate zu erzielen. Nur mußten hierbei die injizierten Dosen erheblich gesteigert werden. Er beobachtete sogar eine Spezifität der gebildeten Antikörper gegenüber dem injizierten Tuberkulin, die sich im Komplementbindungsversuch geltend machte.

Wwedensky (1913) stellte fest, daß das Serum tuberkulosefreier Rinder und Ziegen nach mehrfach vorgenommener vorausgehender subkutaner Einspritzung von Alt-Tuberkulin I.E.M. eine Hemmung der Hämolyse erkennen ließ, jedoch nur dann, wenn im Komplementbindungsversuch das gleiche Tuberkulin als Antigen Verwendung fand. Eine Hemmung der Hämolyse auch bei Verwendung bakterieller Antigene trat nur auf, wenn die Tiere mit Tuberkulose infiziert waren.

Als weiteren Beleg für dieses Ergebnis führt *Wwedensky* entsprechende Versuche an, die er an Kaninchen anstellte. Er impfte dieselben wiederholt subkutan mit Extrakten und Aufschwemmungen von verschiedenen Tuberkelbakterienantigenen und mit dem oben erwähnten, nach Art des Alttuberkulins hergestellten Tuberkulin I.E.M. Auch hier wies das Blutserum der mit bakteriellen Extrakten vorbehandelten Kaninchen mit den bakterienhaltigen Antigenen eine völlige und mit Tuberkulin I.E.M. eine in ihrer Stärke verschiedengradige Hemmung der Hämolyse im Komplementbindungsversuch auf. Die Seren mit Tuberkulin I.E.M. tuberkulinisierter Kaninchen gaben nur bei Verwendung desselben Tuberkulins als

Antigen im Komplementbindungsversuch ein einwandfrei positives Resultat. *Wwedensky* schreibt also hier dem Alttuberkulin antigene Eigenschaften zu, eine Behauptung, die durch spätere Versuche von *Sál* und *Beller* widerlegt wurde.

Rothe und *Bierbaum* (1916) gehen von den oben erwähnten, von *Robert Koch* veranlaßten Versuchen *Möllers* aus, die gezeigt hatten, daß bei tuberkulösen Kaninchen die einmalige Injektion abgetöteter Tuberkelbakterien die Bildung von spezifischen Antikörpern zur Folge hatte. Bei gesunden Kaninchen war zur Erzielung der gleichen Wirkung eine zweimalige Injektion solcher toter Tuberkelbakterien nötig.

Dieselben Versuche stellten die Verfasser auch bei Rindern an und wiesen zunächst nach, daß durch eine einmalige Injektion der bei der subkutanen Injektion gebräuchlichen Dosis von 0,5 ccm Alttuberkulin bei gesunden und tuberkulösen Rindern die Bildung von Antikörpern nicht zustande kam. Einem der Rinder, das auf Tuberkulin positiv reagierte, wurden dann dreimal im Abstand von einem Monat je 4 bzw. 8 ccm Tuberkulin injiziert, ohne ein positives Resultat im Komplementbindungsversuch zu erhalten. Lediglich Präzipitine konnten in geringem Maße nachgewiesen werden. Da auch die bald darauf in Abständen von einem Tag intravenös eingeführte Menge von 8, 16 und 20 ccm Alttuberkulin ohne Einwirkung auf die komplementbindenden Antikörper blieben, gingen *Rothe* und *Bierbaum* dazu über, an 25 Rindern und 3 Pferden ihre Versuche mit abgetöteten Tuberkelbakterien fortzuführen. Die genannten Autoren kamen auf diese Weise zu dem Ergebnis, daß sowohl bei tuberkulösen als auch bei tuberkulosefreien Rindern die Bildung von Antikörpern durch eine einmalige intravenöse Injektion abgetöteter Tuberkelbakterien möglich war. Die Tuberkulinempfindlichkeit der Rinder spielte hierbei keine Rolle. Ohne Bedeutung für das Ergebnis war die Art und Weise der Abtötung der Bakterien. Sie konnten durch langjähriges Austrocknen abgestorben oder durch Alkohol abgetötet worden sein, nur mußten sie in ihrer Form erhalten bleiben. Bei geringeren Mengen als 30 mg war der Erfolg unsicher. Der Antikörpergehalt hatte gewöhnlich am 7. Tag seinen Höhepunkt erreicht, auf dem er die ersten vier Wochen stehen blieb, um im Laufe des zweiten Monats wieder vollständig zu verschwinden. Die geringe Zahl der Pferde ließ eine bestimmte Schlußfolgerung über das Verhalten dieser Tiere den Vollbakterien gegenüber nicht zu. Die Verhältnisse schienen jedoch den bei den Rindern gefundenen gleich zu sein.

Eichhorn und *Blumberg* (1917) machten im Verlauf von praktischen Versuchen die Beobachtung, daß die *subkutane Einspritzung* von Tuberkulin bei vorher negativ reagierenden Rindern eine Neubildung von Antikörpern zur Folge hatte, eine Beobachtung, die später (1928) auch von *Wischnewsky* bestätigt wurde, ohne daß die genannten Versuchsansteller die dabei notwendigen Zusammenhänge zwischen latenter Infektion und der durch die Einverleibung von Tuberkulin erfolgenden Aktivierung der Antikörperbildung erkannten.

Panisset (1922) prüfte die Frage, ob das im Pasteur-Institut in Paris hergestellte Tuberkulin in diagnostischen Dosen bei gesunden und kranken Rindern nach subkutaner und *intrakutaner Injektion* zu einer Bildung von Antikörpern führt. Seine Versuche stellte er an 17 gesunden und 7 tuberkulösen Rindern an. Er untersuchte das Blutserum der mit Tuberkulin geimpften Tiere nach 10, 21 und 31 Tagen auf komplementbindende Antikörper und kam zu dem Ergebnis, daß wohl bei kranken Tieren eine Neubildung bzw. Vermehrung von spezifischen Antikörpern stattfindet, aber niemals bei gesunden. Dies war bei der subkutanen Injektion von 5 ccm des zehnfach verdünnten Tuberkulins in gleicher Weise der Fall wie bei der intrakutanen Injektion von 0,1 ccm 1:4 verdünnten Tuberkulins an der After-Schwanzfalte.

Verge kam 1923 bei entsprechenden Versuchen an Hunden zu dem gleichen Ergebnis, wonach es des Vorhandenseins von tuberkulösen Veränderungen bedarf, um durch die subkutane oder intrakutane Einverleibung von Tuberkulin die Bildung von Antikörpern im Blutserum solcher Tiere auszulösen.

Sál (1934) prüfte unter der Leitung von *Beller* die in Deutschland zur Vornahme der Tuberkulinisierung üblichen Tuberkulinpräparate auf ihre Fähigkeit, Antikörper zu bilden. Er verwandte zu seinen Versuchen 40 im Komplementbindungsversuch negativ reagierende Meerschweinchen, die er mit *Kochscher* Tuberkelbazillenemulsion der I.G.-Farbenindustrie, mit Rindertuberkulin derselben Firma und mit Phymatin der Impfstoffgesellschaft Phava-Leipzig sowie mit Diophtin der Sächsischen Serum A.-G. Dresden impfte. Die Impfungen wurden dreimal wiederholt, wobei zum ersten Mal am 10. Tag nach der ersten Impfung Blut entnommen wurde. Die Einverleibung der genannten biologischen Produkte erfolgte jeweils subkutan und *intraperitoneal*. Aus seinen Versuchen geht hervor, daß die *Kochsche* Tuberkelbazillenemulsion und das Diophtin schon nach der zweiten Injektion in ziemlich starkem Maße

Antikörper bilden können. Bei intraperitonealer Applikation der *Koch*schen Tuberkelbazillenemulsion traten sogar schon nach der ersten Injektion Antikörper in Erscheinung. Im Gegensatz hierzu erzeugte das Rinder Alttuberkulin bei subkutaner Injektion überhaupt keine, und das Phymatin nur in einem einzigen, zweifelhaft zu beurteilenden Falle Antikörper. Erst bei intraperitonealer Einverleibung dieser Präparate trat eine geringe, bei Phymatin eine etwas stärkere, erst nach der dritten Injektion nachzuweisende Bildung von Antikörpern ein. Diese bewirkten im Komplementbindungsversuch im Gegensatz zu den Angaben *Wwedenskys* auch mit Tuberkelbazillen-Aufschwemmungen eine Hemmung der Hämolyse, allerdings, wie oben erwähnt, erst nach mehrmaliger Injektion.

Zuletzt hat in Fortführung der *Sál*schen Beobachtungen *Beller* (1934) die Beeinflussung der Komplementbindung durch Einspritzung von gereinigtem Tuberkulin erneut praktisch geprüft, nachdem er schon vorher nachgewiesen hatte, daß der B.C.G. Impfstoff imstande ist, Antikörper zu erzeugen. Er führt in seiner Veröffentlichung zunächst eine Gruppe von negativ reagierenden Rindern an, die nach der subkutanen Injektion von 0,5 ccm Rindertuberkulin eine positive Reaktion im Komplementbindungsversuch zeigten. Die Antikörper traten jedoch nicht regelmäßig auf und waren in der größten Zahl der Fälle nur mit Tuberkulin als Antigen nachzuweisen.

Eine weitere Gruppe von tuberkulin negativen Tieren, wurde dreimal mit verschiedenen Tuberkulinpräparaten in der Menge von 0,5 ccm *subkutan* gespritzt und das Blutserum jedesmal nach Verlauf von 8 Tagen auf das Vorhandensein von Antikörpern untersucht. Eine Einwirkung auf die Antikörperbildung konnte hierbei nur bei dem Diophtin der Sächsischen Serumwerke und dem Phymatin der Phava festgestellt werden. *Beller* folgert daraus, daß diese Präparate, wenn auch vielleicht nur äußerst spärlich, neben dem spezifischen Allergen korpuskuläre Elemente von Tuberkelbakterien enthalten.

Bei einer dritten Gruppe von Tieren, die alle eine positive Hautreaktion zeigten, wurde die subkutane Tuberkulinisierung mit 4 ccm einer 10prozentigen Lösung von Bovotuberkulin vorgenommen und das Blut der Tiere täglich im Komplementbindungsversuch untersucht. Bei einigen dieser Tiere konnten hierbei schon am ersten Tag nach der Einspritzung Substanzen nachgewiesen werden, die mit Tuberkulin und einige Tage später auch mit den Aufschließungsantigenen eine Bindung eingingen. Aus der Tatsache des schnellen

Auftretens dieser Stoffe und ihres Verschwindens nach etwa 7 Wochen zieht *Beller* den bereits aus den *Sál*schen Versuchen nahe gelegten Schluß, daß es sich bei dem Tuberkulin nicht um ein echtes Antigen, sondern um ein Hapten handelt, das die schon in einem tuberkulösen Herd aufgespeicherten Antikörper aktiviert, ohne selbst Antikörper erzeugen zu können. Fehlt ein solcher „verborgener tuberkulöser Herd" als Angriffspunkt für das Tuberkulin im Organismus, so vermag, wie *Beller* nachgewiesen hat, selbst die *intravenös* eingeführte Menge von 10 ccm Bovotuberkulin den negativen Ausfall der Komplementbindung in keiner Weise zu beeinflussen.

Auf diese Weise fanden die früheren Versuche deutscher, amerikanischer, französischer und russischer Autoren bezüglich des Auftretens von Antikörpern nach der Tuberkulinanwendung eine befriedigende Erklärung. Ihr Erscheinen im Blutbild bei hyperergisch negativ reagierenden Tieren ist ein Beweis dafür, daß das verwendete Tuberkulin kein reines Allergen im Sinne des *Koch*schen Alttuberkulins darstellt, sondern antigene Eigenschaften besitzt. Dies ist besonders dann zu erwarten, wenn die Antikörperbildung erst nach Verlauf der üblichen Bildungszeit von freien Rezeptoren oder Ambozeptoren entsprechend den durch *Paul Ehrlich* mit seiner Seitenketten-Theorie gegebenen Vorstellungen in die Erscheinung tritt. Wird sie schon vorher nachgewiesen und liegt gleichzeitig eine umstimmende Sensibilisierung vor, so ist dies als Beweis dafür anzusehen, daß das betreffende Tier tuberkulöse Krankheitsherde in sich birgt. Dies ist auch dann anzunehmen, wenn Anzeichen einer Umstimmung im Sinne einer Ueberempfindlichkeit nicht vorliegen. In diesem Falle zeigt also die durch die Tuberkulinbehandlung verursachte Antikörperbildung die Tuberkulose auch noch bei anergisch reagierenden Individuen an. Und zwar sind es zuerst die von *Wassermann* und *Bruck* als Antituberkulin bezeichneten Antikörper, die unter solchen Umständen im Blutserum von tuberkulinisierten Tieren zu erwarten sind. Erst später treten die Reaktionen auch mit Bazillenantigenen ein. Praktisch wird man daher beide Antigene im Komplementbindungsversuch anwenden müssen.

Dies gilt, wie gesagt, für die *subkutane* Anwendung des *Koch*schen Alttuberkulins. Für meine Versuche stand somit zu beweisen, inwieweit diese Schlußfolgerungen auch für die *intrakutane* Tuberkulinisierung Geltung besitzen. Bezüglich der letzteren hielt ich mich unter Berücksichtigung der unter der Anleitung von *Beller* ausgeführten Arbeiten von *Lücke* (1931) und *Gaggermeier* (1932) an die neueste, hierüber vorliegende Veröffentlichung von *Zeller*

(1936) über die im Reichsgesundheitsamt gemachten Erfahrungen bezüglich der Beurteilung der Reaktionsergebnisse bei Anstellung der intrakutanen Tuberkulinprobe. Darüber und über die Technik der Ausführung und Ablesung dieser Reaktion zu berichten, gehört bereits in das folgende Kapitel, in dem ich meine eigenen hierüber angestellten Versuche und voraus die angewandten Untersuchungsmethoden schildern werde.

III. Eigene Versuche.

a) Untersuchungstechnik.

Meine Untersuchungen erstreckten sich auf vier Bestände in der näheren Umgebung Gießens mit zusammen 222 Rindern. Dazu kamen noch 32 Schlachtrinder, die aus dem freiwilligen Tuberkulosebekämpfungsverfahren als offen tuberkulös anfielen und 8 Tage vor der Schlachtung in die Stallungen des Instituts eingestellt wurden. In der Zwischenzeit konnten die erforderlichen Untersuchungen durchgeführt werden.

Zu den Untersuchungen an lebenden Tieren wurden deshalb Bestände gewählt, die sich in der Umgebung von Gießen befanden, damit ich sie an mehreren Tagen hintereinander besuchen konnte. Außer der wiederholten allergischen und serologischen Untersuchung wurde bei jedem einzelnen Tier auch die bakteriologische Untersuchung des Luftröhrenschleims vorgenommen, um auf diese Weise einen möglichst umfassenden Ueberblick über den Verseuchungsgrad des betreffenden Bestandes zu erhalten.

Der Untersuchungsgang war folgender:

Bei den Rindern in den genannten Beständen wurde in einem Arbeitsgang Blut und Rachenschleim entnommen. Dann erfolgte anschließend die intrakutane Tuberkulinisierung, deren Ergebnis nach 3 Tagen abgelesen wurde. Im Anschluß daran erfolgte im Laboratorium die Verarbeitung des Luftröhrenschleims und die Untersuchung des Blutes auf komplementbindende Antikörper. Nach Ablauf von 8 Tagen wurde bei den Rindern ein zweites Mal Blut entnommen und das Serum in gleicher Weise wie das erste Mal auf das Vorhandensein komplementbindender Antikörper geprüft.

Da es sich bei den Schlachtrindern um die im freiwilligen Tuberkulosetilgungsverfahren auszumerzenden Rinder handelte, wurde auf die Luftröhrenschleimentnahme verzichtet, jedoch der

Schlachtbefund genau aufgenommen mit besonderer Berücksichtigung des Infektionsweges und der Ausbreitung der Tuberkulose.

Das Blut wurde nach Desinfektion der Stichstelle aus der Drosselvene entnommen. Für jedes Tier wurde hierbei eine neue sterile Kanüle verwendet. Das Blutserum wurde nach mehrmaligem Zentrifugieren mit dem zehnten Teil einer 5%igen Karbolsäurelösung versetzt und so bis zur Ausführung des Komplementbindungsversuches aufbewahrt.

Zur Vornahme der intrakutanen Tuberkulinisierung wurde in der rechten Schultergegend eine etwa handtellergroße Fläche der Haut geschoren und die Dicke einer an dieser Stelle mit dem Daumen und Zeigefinger der linken Hand gebildeten Hautfalte mittels der Daumendruckschubleere mit Uhrzeiger gemessen. Die Messung wurde mindestens dreimal wiederholt und aus den verschiedenen Ergebnissen — es handelte sich um Unterschiede von kaum mehr als 0,02 cm — das Mittel genommen. Ich achtete dabei darauf, daß die Hautfalte immer an der gleichen Stelle gebildet und nicht von dem Schulterblatt abgehoben wurde. In die geschorene Haut wurde mit einer 1 ccm Rekordspritze, die mit einer kurzen, etwa 1 cm langen, feinen Kanüle versehen war, in senkrechter Richtung von oben nach unten parallel zur Hautoberfläche 0,1 ccm einer 50prozentigen Verdünnung des Höchster Rindertuberkulins injiziert. Die Haut wurde nicht desinfiziert. Eine kleine Quaddel in der Haut zeigte das Gelingen der Tuberkulinisierung an. Die Vornahme der Injektion in der Schultergegend war aus dem Grunde angezeigt, weil man so den Abwehrbewegungen der Tiere weniger ausgesetzt ist, als bei Ausführung der Probe an der Halsseite. Nach 4 Tagen wurde die Dicke der Hautfalte an der Impfstelle in der gleichen Weise wie das erste Mal gemessen, und die Reaktion bei einer Dickenzunahme der Haut um 0,3 cm und mehr als positiv bezeichnet.

Bei den Kühen des ersten Bestandes wurde die allergische Reaktion täglich abgelesen. Später begnügte ich mich damit, nach den Anweisungen des Reichsgesundheitsamtes *(Zeller)* eine einmalige Ablesung am 3. Tage nach der intrakutanen Injektion des Tuberkulins vorzunehmen.

Die Entnahme des Rachenschleims erfolgte mit dem Luftröhrenpinsel nach Einführung des Tracheotubus von *Schermer* etwa handbreit unter dem Kehlkopf in die mit der Hand fixierte Luftröhre nach vorausgegangener Desinfektion der Einstichstelle mit Jodtinktur. Die zuerst verwandten Gazetupfer hatten den Nachteil, daß sie wegen ihrer Auffaserung beim Einführen in das sterile Glasröhrchen

dieses von außen mit infektiösem Material beschmutzten. Für jedes Tier wurde ein besonderer Tracheotubus und ein frisch ausgekochtes Stilett benutzt. Im Laboratorium wurden die Tupfer mit ungefähr 3 ccm destilliertem Wasser übergossen, kräftig durchgeschüttelt und ausgequetscht. Von der so erhaltenen Flüssigkeit wurde 1 ccm einem Meerschweinchen intramuskulär injiziert. Nach 21 Tagen wurden die Meerschweinchen zum ersten Mal durch Abtasten der Lymphknoten geprüft. Alle Meerschweinchen wurden nach 6 Wochen getötet. Die Lymphknoten der bei der Sektion auf Grund des pathologisch-anatomischen Befundes als positiv erkannten Tiere wurde zwischen zwei Objektträgern zerquetscht. Durch mikroskopische Untersuchung des nach *Ziehl-Neelsen* gefärbten Ausstrichs wurde das Vorhandensein von Tuberkelbakterien bestätigt. Ebenso wurde mit den, wenn auch nur gering verdächtigen Tieren verfahren.

Der Rest, der in dem Röhrchen verbleibenden Flüssigkeit, wurde, nachdem er mit Salzsäure übergossen war, die ich 10 Minuten lang einwirken ließ, 10 Minuten lang zentrifugiert, so daß die Flüssigkeit im ganzen 20 Minuten lang der Einwirkung der Salzsäure überlassen war. Der Bodensatz wurde mit einer sterilen Oese auf dem *Witte*schen Eiernährboden ausgestrichen. Die Zubereitung des Nährbodens erfolgte genau nach den Angaben von *Witte* jedes Mal frisch vor jeder Luftröhrenschleimentnahme, da von der genauen, sorgfältigen Herstellung desselben das Gelingen des Versuches abhängt. Hinsichtlich der Herstellung dieser Nährböden sei auf die Arbeit von *Witte* (1935) verwiesen. Nach Beschickung der Eiernährböden mit dem zu untersuchenden Bodensatz wurden die Röhrchen mit Zellstofftupfern und nach wiederholtem Abbrennen mit Guttapercha verschlossen und in den Brutschrank von 37,5° C verbracht. Nach 3 Wochen erfolgte die erste und nach 6 Wochen die endgültige Ablesung. Von den negativen Kulturen wurde ein Abstrich auf dem Objektträger angefertigt, der in gleicher Weise wie die Abstriche aus den Lymphknoten der Meerschweinchen nach *Ziehl-Neelsen* gefärbt und auf das Vorhandensein von Tuberkelbakterien mikroskopisch untersucht wurde.

Wegen der sehr geringen Menge des bei dem Zentrifugieren der Flüssigkeit erhaltenen Bodensatzes wurde von einer vorherigen mikroskopischen Untersuchung abgesehen und das ganze Zentrifugat auf die Nährböden gebracht.

Die Vornahme der Komplementbindung erfolgte nach der von *Beller* (2. Mitteilung) angegebenen Technik, dem hierbei die von

Schütz und *Schubert* zur Rotzdiagnose angewandte Methode als Vorbild diente. Ich benötige danach:

gewaschene Hammelblutkörperchen
Kaninchenambozeptor
Meerschweinchenkomplement
Antigen und
das zu untersuchende Serum.

Das Hammelblut wurde jedesmal frisch einem Hammel aus der Drosselvene entnommen, in einem mit Glasperlen versehenen Gefäß aufgefangen und durch sofortiges, 10 Minuten langes Schütteln defibriniert. Durch mehrmaliges Zentrifugieren, Absaugen des Serums und Mischen der Blutkörperchen mit physiologischer Kochsalzlösung wurde es gewaschen und nach Auffüllung mit physiologischer Kochsalzlösung auf das ursprüngliche Blutvolumen in vierprozentiger Verdünnung in den Versuch genommen.

Den Kaninchenambozeptor erhielt ich aus einem im Institut aufbewahrten Vorrat von konserviertem, inaktiviertem Blutserum, das einem mit Hammelblutkörperchen immunisierten Kaninchen aus der Ohrvene entnommen war. Zur Bestimmung des Ambozeptor-Titers wurden Verdünnungen in der Stärke von 1:100 bis 1:10 000 hergestellt. Je 1 ccm der Verdünnung wurde mit 1 ccm 4prozentigem Hammelblut, 0,5 ccm 10prozentigem Meerschweinchenkomplement und 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung 20 Minuten im Wasserbad von 37° belassen. Von der gerade lösenden Menge wurde jeweils die *sechsfach stärkere* für die Anstellung des Komplementbindungsversuches gewählt.

Zur Gewinnung des Komplements entnahm ich einem narkotisierten Meerschweinchen durch Herzpunktion Blut. Das Blutserum wurde durch mehrmaliges Zentrifugieren von den festen Bestandteilen befreit und nach der von *Witte* angegebenen Methode durch Zusatz von Aqua dest. 50,0, Kal. sulf. 5,0, Acid. boric. 2,0 im gleichen Verhältnis konserviert. So konnte ich für sämtliche Versuche das gleiche Komplement verwenden. Es wurde in 10%iger Verdünnung in den Versuch genommen. Um recht genaue Werte zu erhalten, wurde es vor jedem Hauptversuch in fallenden Mengen von 0,5 bis 0,05 ccm 20 Minuten lang mit 1 ccm hämolytischem Ambozeptor und 1 ccm der 4%igen Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung nach Auffüllung auf 4,5 ccm mit physiologischer Kochsalzlösung im Wasserbad von 37° bis 38° C zusammengebracht. Verwendung fand die gerade lösende Menge.

Als Antigen kam das zur Vornahme der Tuberkulinisierung benutzte Rinder-Tuberkulin der Höchster Farbwerke zur Anwendung. Außerdem benutzte ich das vom Perleberger Impfstoffwerk, Berlin-Niederschönhausen, nach den Angaben von Prof. *Beller* hergestellte Trocken-Antigen und ein im Institut nach denselben Vorschriften zubereitetes flüssiges ameisensaures Aethylantigen. Die Antigene wurden durch Herstellung von Verdünnungen in fallenden Mengen von 20 bis 0,25 % mit Hilfe eines bekannten positiven und negativen Serums genau eingestellt. Eine dritte Reihe ohne Serum diente zur Prüfung auf Eigenhemmung des Antigens. Den beiden ersten Reihen wurde je ein Röhrchen ohne Antigen zur Prüfung auf Eigenhemmung des Serums zugegeben. Die Einzelheiten der Herstellung des Antigens sind im übrigen von *Gaggermaier* (1932) beschrieben worden.

Die Gewinnung und Karbolisierung der zu untersuchenden Seren ist oben beschrieben. Zur Vernichtung des vorhandenen Komplements wurden die Seren eine halbe Stunde lang im Wasserbad von 57° bis 58° C inaktiviert.

Der Hauptversuch wurde in halben Mengen angesetzt, d. h. es wurden 0,1 ccm des zu untersuchenden Serums der Einwirkung von 0,5 ccm der ausgewerteten Antigenverdünnung und der halben Menge des im Vorversuch ausgewerteten 10prozentigen Komplements im Wasserbad von 37° C 20 Minuten lang überlassen. Anschließend wurde dann 1 ccm hämolytisches System, bestehend aus 0,5 ccm Ambozeptorverdünnung und 0,5 ccm des 4%igen Hammelblutes, hinzugegeben und nach weiterem, 20 Minuten langem Verbleiben der zuvor geschüttelten Röhrchen im Wasserbad von 37° C das Ergebnis abgelesen. Ich bezeichnete die völlige Hemmung der Hämolyse mit „Stark positiv" (+++), schwächere, bzw. stärkere Anlösung mit „Mittelgradig positiv" (++) und „Schwach positiv" (+). Das völlige Ausbleiben der Hämolyse bezeichnete ich mit „Negativ" (—).

Bei Seren, die nach der Tuberkulinisierung einen veränderten Antikörpergehalt aufwiesen, und in allen Zweifelsfällen wurde der Versuch mit den beiden in Abständen von 8 Tagen entnommenen Blutproben unter gleichen Bedingungen wiederholt.

b) Untersuchungen von Rindern in verschiedenen Beständen.

Die Ergebnisse der Untersuchung möchte ich auch im Hinblick auf die Ausbreitung der Tuberkulose in den einzelnen Beständen auswerten. Die vier untersuchten Bestände gehören sämtlich dem

freiwilligen Tuberkulosebekämpfungsverfahren an. Der besseren Uebersicht wegen und zur genauen Belegung der Untersuchungsergebnisse lasse ich für jeden Bestand drei Tabellen folgen, aus denen für jedes Tier das Ergebnis der allergischen Reaktion, des Tierversuchs und der Untersuchung der beiden, in Abständen von 8 Tagen von jedem Tier entnommenen Blutproben zu ersehen sind.

Bestand A.

Im ersten Bestand konnten aus äußeren Gründen nur die Milchkühe und der Bulle, aber nicht die Jungtiere auf das Vorhandensein von Tuberkulose geprüft werden.

Wie aus der nachstehenden Tabelle ersichtlich ist, reagierten von den 73 Kühen 52 auf die intrakutane *Tuberkulinprobe* positiv. Nach den z. Zt. bestehenden Ansichten über die Bedeutung der allergischen Reaktion bedeutet dies, daß 71,23 % der Tiere dieses Bestandes schon einmal mit Tuberkelbazillen infiziert worden sind. Ob die Infektion im Organismus gehaftet hat, geht aus der veränderten Reaktionsfähigkeit der tuberkulinpositiven Tier nicht hervor. Auch der Bulle reagierte auf Tuberkulin positiv.

Tabelle I.

Gesamtzahl der Tiere	Allerg. pos.	Bakt. pos.	Serol. pos.
74	53 = 71,2 %	18 = 24,3 %	4 = 5,4 %

Das Verhalten der einzelnen Tiere auf die einzelnen Untersuchungsmethoden geht aus der nächstfolgenden Uebersicht hervor, in der jeweils die allergisch, bakteriologisch und serologisch gleichsinnig oder abweichend reagierenden Tiere einander gegenübergestellt sind.

Tabelle II.

Gesamtzahl der Tiere	Allerg. pos.	Bakt. pos.	Serol. pos.
19	—	—	—
35	+	—	—
16	+	+	—
1	+	+	+
1	—	—	+
0	—	+	+
1	—	+	—
1	+	—	+

Im einzelnen ist zu den beiden Tabellen noch folgendes zu sagen:

Als *bakteriologisch* positiv sind durch die kombinierte Methode Kultur- und Tierversuch 18 = 24,3 % erkannt worden, von denen 17 allergisch reagierten.

Als im Tier- und Kulturversuch übereinstimmend zeigten sich 12 der als positiv erkannten Tiere. Viermal war der Meerschweinchenversuch überlegen, einmal der Kulturversuch, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß zwei der positiven Meerschweinchen die Ohrmarken verloren hatten und nur auf Grund des Kulturversuchs eingereiht werden konnten.

Der Bulle war bakteriologisch negativ.

Der *Komplementbindungsversuch* hatte in 3 Fällen positive Ergebnisse. In einem dieser Fälle waren die allergische und bakteriologische Untersuchung negativ. Es liegt daher nahe, die Reaktion als unspezifisch zu bezeichnen, obwohl dies nicht der Fall sein muß, da gerade im vorgeschrittenen Zustand der Erkrankung die allergische Reaktion negativ ausfallen kann.

Was die Beeinflussung des Ambozeptorengehaltes durch die Tuberkulineinspritzung anlangt, so war eine solche nur in 3 Fällen nachweisbar, wie die nachstehende Tabelle unter Anführung der Stärke der Reaktionen lehrt.

Tabelle III.

Lfd. Nr.	Allerg.	Bakt.	Serol. vor Tub.		Serol. nach Tub.	
			Tub.	Perlebg.	Tub.	Perlebg.
55	pos.	neg.	—	±	—	++
74	pos.	neg.	+	±	+++	+++
111	pos.	neg.	—	—	+++	+++

Ein Tier wies bei der zweiten Blutentnahme eine Verstärkung des Titers auf. Bei einem weiteren Tier reagierte die erste Blutprobe überhaupt negativ im Gegensatz zu dem 8 Tage später entnommenen zweiten Serum. Ebenso machte sich bei dem Tier Nr. 74 eine Verstärkung der Antikörperbildung nach der Tuberkulininjektion bemerkbar.

Das positive Ergebnis der Blutuntersuchung deckte sich nur in einem Fall mit dem der bakteriologischen Untersuchung. Insbesondere lieferten die erst nachträglich durch die Tuberkulinprobe serologisch aktivierten Tiere einen negativen serologischen Befund.

Dies bedeutet also, daß von den bakteriologisch positiven Tieren nur eines durch den Komplementbindungsversuch erfaßt worden wäre.

Zusammenfassung:

Von insgesamt 74 Tieren des Bestandes A wurden bei 18 = 24,3 % Tuberkelbakterien im Luftröhrenschleim nachgewiesen. Davon reagierten 17 Tiere auf die intrakutane Tuberkulinprobe und 1 Tier im Komplementbindungsversuch positiv.

Legt man das Ergebnis der intrakutanen Tuberkulinisierung dem Vergleich zu Grunde, so waren von den 53 mit diesem diagnostischen Verfahren als positiv erkannten Tieren 16 = 30,2 % bakteriologisch positiv und 2 = 3,8 % serologisch positiv.

Eine Beeinflussung der Komplementbindung durch die 8 Tage vorausgegangene intrakutane Tuberkulinisierung ist insofern zu erkennen, als die zunächst negativ reagierenden Blutproben von zwei Tieren bei der zweiten Blutuntersuchung positiv reagierten und bei einem Tier eine stärkere Reaktion bei der zweiten Untersuchung im Vergleich zu der ersten zu verzeichnen war.

Bestand B.

Eine stärkere Verseuchung mit Tuberkulose als im ersten Bestand lag in dem zweiten von mir untersuchten Bestande vor, obwohl hier außer 53 erwachsenen Tieren auch 17 Jungrinder auf Tuberkulose untersucht wurden. Die mit den drei Methoden erlangten Untersuchungsergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle IV einander gegenübergestellt.

Tabelle IV.

Gesamtzahl der Tiere	Allerg. pos.	Bakt. pos.	Serol. pos.
70	62 = 88,6 %	20 = 28,5 %	14 = 20 %

Von den 70 untersuchten Tieren zeigten 62 = 88,6 % Tiere, darunter ein Bulle, eine positive *allergische* Reaktion, und zwar von den 52 Kühen 47 = 92,3 % und von den 17 Jungrindern 14 = 82,4 %. Bei 2 Tieren, die als bakteriologisch positiv erkannt wurden, konnte das Ergebnis der Tuberkulinisierung nicht abgelesen werden, da sie schon vor dem 4. Tag zur Schlachtung abgegeben wurden.

Auch die *bakteriologisch* positiven Fälle erfahren in diesem Bestand eine Steigerung. Von den 70 Tieren erwiesen sich 20 = 28,5 % als bakteriologisch positiv. Im einzelnen befanden sich darunter von den 52 Kühen 19 = 36,5 % und von den 17 Jungrindern 1 = 5,9 %. Von diesen 20 bakteriologisch positiven Tieren konnten 13 durch den Tier- und Kulturversuch gemeinsam, 4 weitere Tiere allein durch den Kulturversuch und 3 lediglich durch den Tierversuch ermittelt werden. Der Kulturversuch zeigte sich hier also dem Tierversuch etwas überlegen. Die als bakteriologisch positiv erkannten Tiere zeigten alle bis auf die beiden zur Schlachtung verkauften Tiere, bei denen die Reaktion nicht abgelesen werden konnte, eine positive allergische Reaktion.

Serologisch positiv reagierten im gleichen Bestand bei der ersten Blutuntersuchung 14 = 20,0 % der Tiere. Wie sich diese auf die bakteriologisch positiven und auf die hyperergisch reagierenden verteilen, ist aus der folgenden Tabelle V ersichtlich.

Tabelle V.

Gesamtzahl der Tiere	Allerg. pos.	Bakt. pos.	Serol. pos.
6	—	—	—
37	+	—	—
11	+	+	—
7	+	+	+
0	—	—	+
0	—	+	+
0	—	+	—
7	+	—	+

Zwei Tiere, bei denen das Ergebnis der Tuberkulinisierung nicht abgelesen werden konnte, werden in dieser Tabelle nicht geführt. Daher rühren die Unstimmigkeiten gegenüber dem Text. Es bleiben also nur 6 Tiere, die gänzlich negativ reagierten. Mehr als die Hälfte aller Tiere reagierte nur auf Tuberkulin, $^1/_5$ dagegen serologisch und fast $^1/_3$ bakteriologisch positiv.

Tabelle VI.

Lfd. Nr.	Allerg.	Bakt.	Serol. vor Tub.			Serol. nach Tub.		
			Tub.	Bell.	Perlebg.	Tub.	Bell.	Perlebg.
138	pos.	neg.	—	—	—	++	+	±
174	pos.	neg.	±	±	—	++	+++	+
177	pos.	pos.	—	—	—	+++	+++	+
178	pos.	neg.	—	—	—	+++	+++	+++
185	pos.	neg.	—	—	—	+	++	±
187	pos.	neg.	—	—	—	+++	+++	++
188	pos.	neg.	—	—	—	+	++	++
189	pos.	neg.	—	—	—	+	+++	++

Wie aus Tabelle VI hervorgeht, ergab sich bei 8 Tieren nach der Tuberkulinisierung eine Neubildung von komplementbindenden Antikörpern. Ein umgekehrtes Verhältnis in dem Sinne, daß die erste Blutprobe eines Tieres positiv und die zweite Blutprobe negativ reagiert hätte, war nicht festzustellen. Gegenüber der erstmaligen Untersuchung sind also bei der zweiten serologischen Untersuchung 10 % der Tiere mehr erfaßt worden. Ohne Ausnahme handelt es sich dabei um hyperergisch reagierende Tiere, aber nur in einem Fall um ein bakteriologisch positives Rind.

Zusammenfassung:

Von den 70 untersuchten Tieren des Bestandes B reagierten 62 = 88,6 % auf Tuberkulin bei Anwendung der intrakutanen Probe und 20 = 28,5 % bakteriologisch positiv. Die bakteriologisch positiven Tiere zeigten ausnahmlos eine positive allergische Reaktion. Bei 13 Tieren = 18,6 %, die auch alle eine hyperergische Reaktion erkennen ließen, fiel der Komplementbindungsversuch mit der vor der Tuberkulinisierung entnommenen Blutprobe positiv aus. Serologisch wurden 8 = 40 % der 20 bakteriologisch positiven Tiere im Komplementbindungsversuch erfaßt. Die Mehrzahl der Bakterienausscheider wäre also dem Nachweis bei alleiniger Anwendung der serologischen Methode entgangen.

Eine Beeinflussung der Antikörperbildung durch die intrakutane Injektion von 0,1 ccm Tuberkulin war bei 8 Tieren im positiven Sinne zu erkennen. Der Umstand, daß es sich bei diesen Tieren nur um ein einziges, bakteriologisch positives handelt, spricht dafür, daß es latente Fälle von Tuberkulose sind, die durch die Tuberkulin-Injektion serologisch aktiviert werden.

Bestand C.

Der dritte Bestand war der kleinste. Er umfaßte nur 13 Kühe, 7 Jungrinder und 2 Bullen. Es handelt sich hierbei fast ausschließlich um Tiere des für Oberhessen bodenständigen Vogelsberger Schlages. Nur eine Kuh und ein Jungrind gehörten der schwarzbunten Tieflandsrasse an. Die Untersuchungsergebnisse sind in Tabelle VII zusammengestellt.

Tabelle VII.

Gesamtzahl der Tiere	Allerg. pos.	Bakt. pos.	Serol. pos.
22	13 = 59,2 %	2 = 8,7 %	8 = 34,5 %

Von den 13 Kühen reagierten 12 = 92,3 %, von den Bullen einer und von den Jungrindern, die von den erwachsenen Tieren getrennt aufgestellt waren, keines auf die intrakutane *Tuberkulinprobe* positiv. Für den ganzen Bestand ergibt sich also eine Verseuchung von nur 39,01 %. Serologisch positiv waren 6 Kühe und die zwei Bullen, d. h. wenn man Bullen und Rinder zusammenfaßt, 34,8 %. Von den serologisch-positiv reagierenden Tieren waren zwei gegenüber Tuberkulin unempfindlich, wie aus der folgenden Tabelle VIII zu ersehen ist. Eine Erklärung ist, wenn man die serologische Reaktion nicht als unspezifisch bezeichnen will, nur so möglich, daß sich die betreffenden Tiere zur Zeit der Untersuchung noch in einem anergischen Zustand befunden haben.

Tabelle VIII.

Gesamtzahl der Tiere	Allerg. pos.	Bakt. pos.	Serol. pos.
7	—	—	—
6	+	—	—
1	+	+	—
1	+	+	+
2	—	—	+
0	—	+	+
0	—	+	—
5	+	—	+

Bei zwei = 8,7 % der Tiere konnten im Lungenschleim Tuberkelbakterien nachgewiesen werden. Diese beiden Tiere reagierten auf Tuberkulin positiv. Eins davon zeigte auch im Komplementbindungsversuch eine positive allergische Reaktion.

Von den beiden *bakteriologisch* positiven Tieren konnte eins durch den Tierversuch und den Kulturversuch ermittelt werden, während bei dem zweiten Tier das Ergebnis der kulturellen Methode zum Nachweis der Tuberkulose negativ ausfiel.

Schwankungen in der Stärke des *Antikörpergehaltes* zwischen den beiden durch die Vornahme der Tuberkulinisierung getrennten Blutproben konnten in diesem Bestand nicht festgestellt werden.

Zusammenfassung:

Von zusammen 22 Tieren des Bestandes C reagierten 59,2 % auf Tuberkulin und 34,4 % im Komplementbindungsversuch positiv. Bei 2 Tieren = 8,7 % waren Tuberkelbakterien im Lungenschleim nachweisbar. Serologisch reagierten 34,5 % positiv, darunter befand sich das eine der bakteriologisch positiven Tiere. Der Tierversuch zeigte sich in einem Fall dem kulturellen Verfahren überlegen.

Durch die intrakutane Einverleibung der diagnostischen Menge von 0,1 ccm Tuberkulin wurde bei keinem Tier eine Antikörperbildung hervorgerufen.

Bestand D.

Ein sehr ungünstiges Bild bietet der von mir zuletzt untersuchte Bestand, der 36 Milchkühe, 18 Jungrinder und 2 Bullen umfaßt. Die Kälber dieses Bestandes wurden wiederum nicht der Untersuchung unterzogen. Die mit Hilfe der verschiedenen Untersuchungsmethoden erhaltenen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle IX einander gegenübergestellt.

Tabelle IX.

Gesamtzahl der Tiere	Allerg. pos.	Bakt. pos.	Serol. pos.
56	52 = 92,9 %	17 = 30,4 %	25 = 44,6 %

Aus der vorstehenden Tabelle ist ersichtlich, daß 50 der 54 Rinder und die beiden Bullen auf die *Tuberkulinprobe* positiv reagierten. Das bedeutet, wenn man wieder den Ausfall der Tuberkulinprobe der Untersuchung zugrunde legt, eine Verseuchung von

92,9 %. Die Kühe lieferten hierbei alle eine positive Reaktion, von den 16 Jungrindern waren 77,8 % gegen Tuberkulin überempfindlich.

Gegenüber dem ersten und zweiten Bestand erfahren auch die *serologisch*-positiven Fälle eine beträchtliche Steigerung. Bei der ersten Blutentnahme lieferten 25 Tiere = 44,6 % eine positive serologische Reaktion. Von diesen war eines allergisch negativ.

Als *bakteriologisch*-positiv konnten 17 Tiere = 30,4 % erkannt werden. Wie aus Tabelle X ersichtlich ist, zeigten diese auch ohne Ausnahme eine positive Reaktion gegenüber Tuberkulin. Bei 6 der bakteriologisch-positiven Fälle stimmte das Ergebnis mit dem serologischen Befund überein.

Tabelle X.

Gesamtzahl der Tiere	Allerg. pos.	Bakt. pos.	Serol. pos.
3	—	—	—
18	+	—	—
10	+	+	—
7	+	+	+
1	—	—	+
0	—	+	+
0	—	+	—
17	+	—	+

Zwischen dem Ergebnis des *kulturellen Verfahrens* und dem des *Tierversuchs* fand insofern ein Ausgleich statt, als in einem Fall der Tierversuch, in einem anderen der Kulturversuch einen positiven Befund ergab. Bei 15 Tieren war der Ausfall der Versuche übereinstimmend.

Tabelle XI.

Lfd. Nr.	Allerg.	Bakt.	Serol. vor Tub.			Serol. nach Tub.		
			Tub.	Bell.	Perlebg.	Tub.	Bell.	Perlebg.
227	pos.	neg.	±	±	—	++	+	+
239	pos.	neg.	—	—	—	++	++	++
240	pos.	pos.	—	++	—	+	+++	++
248	pos.	neg.	—	—	—	—	++	±
252	pos.	pos.	—	++	±	±	+++	+
257	pos.	neg.	—	—	—	—	++	++
267	pos.	pos.	—	—	—	±	+	—
268	pos.	neg.	±	—	—	++	+++	++
269	pos.	neg.	++	++	+	+++	+++	+++
272	pos.	neg.	+++	+	++	+++	+++	+++

Vergleicht man die *serologischen* Befunde der beiden Blutproben miteinander, so ist auch in diesem Bestand bei 10 Tieren eine Vermehrung bzw. Neubildung von Antikörpern nach der Tuberkulinprobe erkennbar. Nur in einem Fall konnte ein Verschwinden der Antikörper bei der zweiten Blutprobe beobachtet werden. Es handelte sich jedoch in diesem Fall bei der ersten Blutprobe nur um eine schwächere, nur mit einem Antigen zu erkennende Hemmung des Komplements durch die Antikörper des Blutserums.

Wie in den vorausgehenden Fällen handelt es sich dabei durchweg um allergisch positiv reagierende Tiere. Nur in 3 von den insgesamt 10 hier in Betracht kommenden Fällen fiel auch die bakteriologische Untersuchung positiv aus, und bei zwei von diesen lieferte bereits die erste Blutuntersuchung mit dem einen Antigen (Beller) einwandfreie positive Ergebnisse. Wie in zwei weiteren Fällen handelt es sich also um eine Verstärkung einer bereits vorhandenen Reaktion, während 6 Fälle durch die Tuberkulininjektion erst serologisch aktiviert wurden.

Zusammenfassung:

Von 56 untersuchten Tieren des Bestandes D reagierten 52 = 92,9 % auf Tuberkulin positiv. Serologisch reagierten 44,6 % positiv und bakteriologisch 30,4 %. Die bakteriologisch positiven Tiere zeigten gegenüber Tuberkulin alle eine positive Reaktion, während von den serologisch positiven Tieren nur eins eine negative allergische Reaktion aufwies. Sechs der bakteriologisch positiven Fälle wären durch den Komplementbindungsversuch erkannt worden.

Bei 10 Tieren war eine Neubildung bzw. ein vermehrtes Auftreten von Antikörpern bemerkbar.

c) Ergebnis der Untersuchungen an Schlachttieren.

Im Gegensatz zu den bisher untersuchten Tieren, bei denen nur der bakteriologische Befund einen gewissen Rückschluß auf die Ausbreitung der Tuberkulose im Körper gestattete, wurde bei den folgenden der bei der Schlachtung erhobene pathologisch-anatomische Befund der Untersuchung zugrunde gelegt. In diesen Untersuchungsgang wurden 32 Tiere eingeschlossen. In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse zusammengefaßt, wobei wiederum, wie es auch bei den vorstehend geschilderten Versuchen geschehen ist, die intrakutane Tuberkulinprobe mit dem Ausfall der Komplementbindungsreaktion in Vergleich gestellt wurde.

Tabelle XII.

Anat. Befund	Zahl der Tiere	davon Allerg.		davon Serol.	
		pos.	neg.	pos.	neg.
Tuberkulose-frei	1	0	1	0	1
isolierte Lymphdr. Tub.	0	0	0	0	0
Lungentub.	5	5	0	3	2
hämatogene Verbreitung	1	1	0	1	0
lymphogene Verbreitung	9	8	1	9	0
lymph. + häm. Verbreitung	16	13	3	14	2
Summe	32	27	5	27	5

Aus dieser Tabelle ist zu entnehmen, daß von den 32 Tieren eines einen negativen *pathologischen Befund* aufwies. Dasselbe Tier war gegenüber Tuberkulin unempfindlich und zeigte auch eine negative serologische Reaktion. Im Ganzen waren 27 Tiere allergisch positiv und 27 serologisch positiv. Uebereinstimmend negativ war der serologische Befund und der Ausfall der intrakutanen Tuberkulinprobe nur in dem einen, oben beschriebenen Fall, bei dem die Sektion einen negativen pathologischen Befund ergab. Die 5 Fälle, bei denen der pathologische Befund nur Erkrankungen der Lunge aufwies, konnten alle durch die allergische Reaktion und drei durch die Komplementbildungsmethode erfaßt werden. Von den 9 Fällen mit reiner lymphogener Verbreitung war ein Tier allergisch negativ, während im Komplementbindungsversuch alle positiv reagierten.

Zu beachten ist das Ergebnis bei den 16 Tieren, bei denen der anatomische Befund eine Verbreitung der Tuberkulose auf dem Blut- wie auch auf dem Lymphwege erkennen ließ. Von diesen 16 Tieren waren 13 allergisch und 14 serologisch positiv. Drei Tiere zeigten eine negative allergische Reaktion bei gleichzeitigem Vorhandensein von Antikörpern im Blutserum. Bei den beiden serologisch negativen Fällen war Ueberempfindlichkeit vorhanden.

Es konnte also auch hier bestätigt werden, daß bei starker Ausbreitung der Tuberkulose im Tierkörper die Tiere in einigen Fällen bei Vorhandensein von *Antikörpern* im Blut anergisch werden, daß

dagegen der serologische Nachweis der Tuberkulose mit dem Fortschreiten der Krankheit an Sicherheit gewinnt. Ferner gelingt es gerade mit Hilfe der Komplementbindungsmethode solche Tiere zu erfassen, die anergisch reagieren, aber doch gefährliche Ansteckungsquellen darstellen. Es ist dies ein Beweis dafür, daß keine Methode zur Erkennung der Tuberkulose vernachlässigt werden darf, wenn auch quantitativ die meisten der mit Tuberkulose infizierten Tiere durch die allergische Reaktion herausgefunden werden.

Wegen der großen Zahl der von vornherein *serologisch* positiven Tiere konnte in diesen Fällen keine Neubildung von Antikörpern festgestellt werden. Die 5 bei der vor der Tuberkulinisierung vorgenommenen Blutentnahme im Komplementbindungsversuch negativ reagierenden Tiere zeigten bei der eine Woche später erfolgten Nachuntersuchung keine Ausschwemmung von spezifischen Ambozeptoren. Der Schlachtbefund ergab bei diesen 5 Tieren in einem Fall ein negatives Ergebnis. Bei den übrigen 4 Tieren handelte es sich in zwei Fällen um reine Lungentuberkulose, wobei einmal nur der linke Bronchiallymphknoten verkäste Herde aufwies, während bei dem zweiten Tier die Lunge neben trocken-käsig veränderten Lymphknoten auch multiple mit flüssig-käsigem Inhalt angefüllte Knoten in den Hauptlappen enthielt. Bei den beiden übrigen Tieren hatte sich die Tuberkulose auf dem Blutweg und in den Lymphbahnen ausgebreitet. In beiden Fällen konnten bei der Sektion in der Lunge verkäste, teilweise mit flüssigem Eiter angefüllte Herde in den Spitzen und Hauptlappen festgestellt werden, was darauf schließen läßt, daß es sich hierbei um noch nicht abgeschlossene Prozesse handelt.

IV. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Aus den vorstehend geschilderten Versuchen ergibt sich eine eindeutige Beantwortung der Frage, ob die intrakutane Einverleibung von 0,1 ccm des 50%ig verdünnten Tuberkulins in gleicher Weise wie die subkutane Verabreichung größerer Tuberkulinmengen imstande ist, die Bildung spezifischer, im Komplementbindungsversuch nachweisbarer Antikörper zu beeinflussen. Dies ist in der Tat der Fall, wie bei einer Reihe von tuberkulösen Rindern durch meine Untersuchungen belegt ist. Die diesbezüglichen Angaben von *Panisset* (1922) dürfen somit auf Grund meines umfangreicheren Untersuchungsmaterials als bestätigt bezeichnet werden.

Hundertsätze für dieses Vorkommen anzugeben, halte ich nicht für angängig, da die Verhältnisse in jedem tuberkulösen Bestand, wie schon *Beller* (1930) festgestellt hat, wieder anders liegen. So waren es im Bestand A unter 74 Tieren 3, im Bestand B unter 70 Tieren 8, im Bestand D unter 56 Tieren 10, die eine Neubildung oder eine Zunahme von spezifischen Antikörpern nach der intrakutanen Tuberkulinisierung erkennen ließen, während im Bestand C von 22 Tieren keines in dieser Weise reagierte.

Praktisch bedeutet dies, daß bei einem immerhin recht beträchtlichen Prozentsatz von Tieren eine Beeinflussung des Antikörpergehalts durch die doch sehr schonende Anwendung des Tuberkulins bei der intrakutanen Applikation in der geringen Menge von 0,05 ccm zu erwarten ist, und zwar handelt es sich dabei nicht nur um eine Verstärkung vorher schon vorhandener Antikörper, sondern um die Aktivierung von Stoffen, die im Komplementbindungsversuch mit Tuberkulin oder auch mit Aufschließungsprodukten von Tuberkelbakterien als Antigen eine verschiedengradige Hemmung der Hämolyse bewirken. Auf den ersten Blick und ohne Kenntnis der darüber bereits in der Literatur vorhandenen Angaben könnte man folgern, daß dem verwendeten Alttuberkulin die Fähigkeit zukommt, nach

parenteraler Einverleibung die Bildung von spezifischen Antikörpern auszulösen. Dem ist aber nicht so, wie *Sál* (1934) und *Beller* (1934) übereinstimmend gezeigt haben. Es können also tuberkulosefreie Rinder nach der Tuberkulinbehandlung nicht komplementbindende Antikörper im Blutserum aufweisen. Ihr Auftreten spricht vielmehr in allen Fällen für das Vorhandensein eines tuberkulösen Herdes, wie auch der in der überwiegenden Zahl der Fälle positive Ausfall der allergischen und bei einer recht erheblichen Zahl von Tieren auch die bakteriologische Untersuchung in meinen Versuchen einwandfrei zeigt, ohne daß anatomisch der betreffende Herd ermittelt zu werden brauchte.

Um dies verständlich zu machen, muß auf Wesen und Bedeutung der Antikörperbildung bei der tuberkulösen Infektion überhaupt und bei der Tuberkulose des Rindes im besonderen eingegangen werden. Nach der zusammenfassenden Darstellung von *Beller* (1931) handelt es sich dabei nicht wie etwa bei den allergischen Proben um eine quantitative, sondern vielmehr um eine qualitative Reaktion. Dies geht auch aus den Beobachtungen hervor, die vorstehend über das Auftreten von Antikörpern bei Schlachtrindern angestellt worden sind. Wie ich bereits eingangs ausgeführt habe, handelt es sich dabei um Tiere, die ausnahmslos im freiwilligen Tuberkulosebekämpfungsverfahren auf Grund klinischer Verdachtsmerkmale der Tuberkulose und des positiven Bakteriennachweises ausgemerzt worden waren. Von den insgesamt 32 Tieren dieser Art reagierten 27 serologisch positiv, wenn man einfach auf die Summe blickt, ein Prozentsatz also, wie er in keinem der untersuchten Bestände erreicht wird. Bei näherem Zusehen zeigt sich aber, daß die Ursache hierfür in der Art der Propagation der tuberkulösen Prozesse zu suchen ist. Betrifft sie Teile, die durch Lymphknoten von den vorgebildeten Saftbahnen abgeriegelt sind, wie z. B. die Lunge, so kann der Grad der Propagation noch so hoch sein, zur Antikörperbildung kommt es nur in einem Teil der Fälle. Sobald aber diese Schranken durchbrochen sind und dem Erreger der Weg in die Blutbahn freigegeben ist, stimmen serologischer und anatomischer Befund zunehmend überein. *Beller* (1928) erklärt dies damit, daß als Voraussetzung für die Bildung von serologisch nachweisbaren Antikörpern die Berührung der Krankheitserreger mit den Uferzellen des Zirkulationssystems, dem Reticulo-Endothel, zu gelten hat. Es fängt die in den freien Blutstrom gelangten Tuberkelbazillen ab, verdaut sie und führt auf diese Weise zur Bildung von freien Rezeptoren bzw. Ambozeptoren, deren Nachweis daher das Vorhandensein einer

Generalisation anzeigt. Zur anatomischen Manifestation kommt es nur dann, wenn die Uferzellen mit den Erregern nicht fertig werden und diese daher zur Bildung von neuen tuberkulösen Herden in den großen Kapillarbezirken der parenchymatösen Organe Anlaß geben. Umgekehrt können nach längerem Bestehen solcher Herde, falls eine neue Einschwemmung von Tuberkelbakterien in die Blutbahn nicht mehr erfolgt, die Antikörper auch wieder aus dem Blutserum verschwinden. So erklärt sich der negative serologische Befund in Fällen mit anatomisch nachweisbarer Generalisation auf dem Blutwege. Der Begriff der anatomisch feststellbaren Generalisation und des serologischen Generalisationsbegriffs deckt sich somit nicht vollkommen. Verbreitung von Tuberkelbakterien auf dem Blutwege bedeutet nicht unbedingt Absiedelung anatomischer Art, und diese Absiedelung ist nicht die Ursache serologisch nachweisbarer Antikörper.

Noch weniger als zwischen dem anatomischen und dem serologischen ist eine Uebereinstimmung zwischen dem serologischen und dem allergischen Befund zu erwarten, der mit der als Folge des Haftens der Infektion auftretenden Aenderung der Reaktionslage des infizierten Organismus zusammenhängt. Wir können hier wiederum auf die Bestandsuntersuchungen zurückgreifen. So stehen beim Bestand A 71,2 % allergisch positiven nur 5,4 % serologisch positive Tiere gegenüber. Beim Bestand B lauten diese Verhältniszahlen 88,6 % zu 20 %, beim Bestand C 59,2 % zu 34,5 % und beim Bestand D 92,9 % zu 44,6 %. Deutlicher noch als gegenüber dem anatomischen Befund äußert sich hierin das wechselnde Verhalten der serologischen Infektionsfolgen im Vergleich zu dem mehr eine statische Tendenz aufweisenden cellulären Vorgänge, zu denen nach den Darlegungen *Bellers* (1932) auch die allergische Umstellung zu rechnen ist.

Dasselbe gilt auch für die bakteriologisch nachweisbare Ausscheidung von Tuberkelbakterien durch die Atmungswege, die ich sowohl durch Tierimpfung als auch durch den Kulturversuch zu erfassen suchte. Sie betrug im Bestand A 24,3 %, im Bestand B 28,5 %, im Bestand C 8,7 % und im Bestand D 30,4 %. Diese Zahlen fügen sich in die von *Wagener* (1936) bestätigten Angaben von *Beller* (1930) ein. Danach liefert die Bakterienausscheidung Aufschluß über die Ansteckungsverhältnisse in einem tuberkulösen Bestand. Sie steht deshalb in einem gewissen Zusammenhang zu der Zahl der allergisch reagierenden Tiere, wenn er auch vollständig weder nach der positiven wie nach der negativen Seite ist. Vielmehr stehen den

allergisch positiven und bakteriologisch negativen auch vereinzelte Tiere gegenüber, die allergisch negativ reagieren, aber trotzdem Bakterienausscheider sind. Dies hängt damit zusammen, daß die Hyperergie von dem Grad der Propagation des tuberkulösen Prozesses insofern abhängig ist, als ausgedehnte Gewebsveränderungen exsudativen Charakters einen Umschlag der Ueberempfindlichkeit in Unempfindlichkeit bewirken. Wenn es sich dabei auch nur um vorübergehende Zustände handelt, so erlangt in diesem Zusammenhang doch die serologische Untersuchung wegen der gerade in diesem Krankheitsstadium häufigen Generalisation eine besondere Bedeutung zumindest als Ergänzungsreaktion. Sie wird, wie es meine nur ein verhältnismäßig geringes Material umfassenden Untersuchungen zeigen, manche Fälle von Tuberkulose zu erfassen vermögen, die sonst dem biologischen Nachweis trotz vielleicht vorhandener klinischer Verdachtsmerkmale entgehen oder wenigstens unklar bleiben würden. Während nach den bestehenden theoretischen Vorstellungen und praktischen Erfahrungen die zusätzliche Tuberkulineinverleibung zu einer Steigerung der Anergie führen muß, wird, wie meine Untersuchungen zeigen, schon durch allergeringste, durchaus im Rahmen diagnostischer Dosen bleibender Mengen von Tuberkulin die Antikörperbildung angeregt und so der wahre Charakter der Erkrankung enthüllt. Dies ist in meinen Versuchen bei 74 Tieren des Bestandes A immerhin zweimal, bei 70 Tieren des Bestandes B 7- bis 8mal und bei 56 Tieren des Bestandes D 4-, und wenn man die zuerst serologisch fraglich reagierenden Tiere hinzurechnet, 6mal festzustellen gewesen. Die Tuberkulinisierung wirkt somit im Sinne der Antikörperbildung als Provokationsmittel und erfährt durch die serologische Untersuchung eine praktisch wichtige Vervollständigung.

Zum Schluß wären noch die Vergleichsuntersuchungen zwischen dem Tier und dem Kulturversuch zu erwähnen. Sie bestätigen die diesbezüglich von *Witte* (1936) und *Trautwein* (1936) gemachten Angaben insofern, als der Kulturversuch mit den von *Witte* (1935) modifizierten Nährböden wertvolle Ergebnisse lieferte, die den mittels des Tierversuchs erhaltenen zum Teil überlegen sind. Teilweise Fehlergebnisse werden dadurch ausgeglichen und zugleich der wichtigen Frage der Typenbestimmung die Wege zu einer Klarstellung noch ungelöster Fragen bezüglich der epidemiologischen Beziehungen von Tier- und Menschentuberkulose eröffnet. Eine Fortsetzung derartiger Versuche auf human- wie auf veterinärmedizinischem Gebiet erscheint daher dringend erwünscht.

V. Schlußsätze.

Auf Grund meiner Untersuchung komme ich zur Aufstellung folgender Schlußsätze:

1. Die intrakutane Einverleibung von 0,1 ccm des 50%igen Alttuberkulins bewirkt bei Rindern die Vermehrung oder die Neubildung serologisch im Komplementbindungsversuch nachweisbarer Antikörper.

2. Voraussetzung dafür ist das Vorhandensein tuberkulöser Herde. Die Tuberkulinisierung besitzt die Bedeutung eines Provokationsverfahrens.

3. Die allergischen Vorgänge sind ebenso wie die anatomischen Prozesse zellulär bedingt und deshalb statischer Natur im Gegensatz zu der serologisch nachweisbaren Bildung von Abwehrstoffen.

4. Sie spiegelt die wechselnde Seuchenlage in einem Bestand wider und ist beim Einzeltier Ausdruck der Generalisation.

5. Wegen der Unabhängigkeit der Antikörper von dem Grad der Propagation bildet ihr Nachweis eine praktisch wichtige Ergänzung der allergischen Methoden.

6. Der Kulturversuch hat sich zum Nachweis von offen tuberkulösen Rindern bewährt und verdient nicht nur zu diagnostischen Zwecken, sondern auch aus epidemiologischen Erwägungen weitgehende Anwendung.

Am Schlusse der Arbeit darf ich Herrn Professor Beller für die Ueberlassung und liebenswürdige Förderung der Arbeit und Herrn Dozent Dr. Schaaf für die vielseitigen Unterstützungen verbindlichst danken.

VI. Autorenverzeichnis.

1. Beller, K. (1928): Untersuchungen über den serologischen Nachweis der Tuberkulose des Rindes. I. Mitt. Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierhlkde. Bd. 58, S. 213.
2. „ (1928): Untersuchungen über den serologischen Nachweis der Tuberkulose des Rindes. II. Mitt. Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierhlkde. Bd. 58, S. 222.
3. „ (1930): Untersuchungen über den serologischen Nachweis der Tuberkulose des Rindes. III. Mitt. Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierhlkde. Bd. 62, S. 237.
4. „ (1931): Die Serodiagnostik der Haustiertuberkulose. Ergebn. d. Allg. Pathol. u. der pathol. Anat. d. Menschen u. d. Tiere v. O. Lubarsch, R. v. Ostertag, W. Frei, Bd. 25, S. 869.
5. „ (1932): Untersuchungen über den serologischen Nachweis der Tuberkulose des Rindes. IV. Mitt. Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierhlkde. Bd. 64, S. 414.
6. „ (1934): Zur Antigenfrage beim serologischen Tuberkulosenachweis. Berliner tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 50, S. 129.
7. Citron, J. (1907): Ueber Tuberkuloseantikörper und das Wesen der Tuberkulinreaktion. Berl. klin. Wochenschr. Jahrg. 44, S. 1135.
8. Eichhorn, A. u. A. Blumberg (1917): Diagnosis of tuberculosis by complement fixation with special reference to bovine tuberculosis. Agric. Res. Jahrg. 8, S. 1.
9. Gaggermeier, G. (1932): Gestattet die Tuberkulinprobe einen Rückschluß auf die Ausbreitung der Tuberkulose? Berl. tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 48, S. 161.
10. „ (1932): Vergleichende Untersuchungen über die allergischen und serodiagnostischen Methoden zum Nachweis der Rindertuberkulose. Zeitschr. f. Infekt.-Krankh. usw. d. Haustiere Bd. 41, S. 202.
11. Lücke, R. (1931): Vergleichende Untersuchungen über die intrakutane Anwendungsmethode des Tuberkulins. Ztschr. für Veterinärkunde Bd. 43, S. 286.
12. Möllers, B. (1912): Die spezifischen Antikörper im Blutserum Tuberkulöser. Dtsch. Med. Wochenschr. Jahrg. 40, S. 745.
13. Panisset, L. (1922): La réaction de deviation du complement dans le diagnostic de la tuberculose des animaux domestiques. Annales de l'Inst. Pasteur Bd. 36, S. 690.
14. Rothe, E. u. K. Bierbaum (1916): Ueber die experimentelle Erzeugung von Tuberkuloseantikörpern beim Rind. Veröffentl. der Rob.-Koch-Stiftung Bd. 1, S. 138.

15. Ruppel, W. G. u. W. Riekmann (1910): Ueber Tuberkuloseserum. Zeitschr. f. Immunitätsforschung Bd. 6, S. 344.
16. Sál, J. (1934): Ueber die antigene Wirkung verschiedener Tuberkuline im Vergleich mit B. C. G. Zentr.-Bl. f. Bakt. Bd. 131, S. 103.
17. Trautwein, K. (1936): Das Kulturverfahren bei dem Nachweis und Erforschung der Tuberkulose. Berl. Tierärzt. Wochenschr. Jahrg. 52, S. 680.
18. Verge, J. (1923): Réaction de fixation et injection du tuberculine chez le chien. C. R. Soc. Biol. Paris Bd. 88, S. 562.
19. Wagener, W. (1936): Untersuchungen über die Leistungen des freiwilligen Tuberkulosebekämpfungsverfahrens. I. Die tatsächliche Verseuchung mit offener Lungentuberkulose. Tierärztl. Rdsch. Jahrg. 42, S. 863.
20. „ (1936): Untersuchungen über die Leistungen des freiwilligen Tuberkulosebekämpfungsverfahrens. II. Versuch und Ergebnisse einer verschärften Tuberkulosebekämpfung. Tierärztl. Rdsch. Jahrg. 42, S. 883.
21. Wassermann, A. u. C. Bruck (1906): Zit. nach Citron (7).
22. Wischnewsky, P. (1928): Zit. nach Beller (6).
23. Witte, J. (1933): Ueber die Konservierung des Komplements in hypertonischen Salzlösungen. Berliner Tierärztl.Wochenschr. Jahrg. 49, S. 138.
24. „ (1935): Beitrag zur Züchtung von Tuberkelbakterien unter besonderer Berücksichtigung des Typus bovinus. Ztschr. f. Infekt.-Krankh. usw. d. Haustiere Bd. 48, S. 14.
25. „ (1936): Vortrag auf der 94. Versammlung der Deutschen Naturforscher u. Aerzte in Dresden 1936.
26. Wwedensky, K. K. (1913): Zur Frage der Komplementbindung bei Tuberkulose. Zentr.-Bl. f. Bakt. Bd. 71, S. 11.
27. Zeller, H. (1936): Beitrag zur Diagnose der Rindertuberkulose. Berliner tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 52, S. 787.

Lebenslauf.

Am 3. April 1912 wurde ich, Johannes Bernhardt, als Sohn des Strafanstaltsvorstehers Barthold Bernhardt in Frankfurt/Main geboren. Von Ostern 1918 bis Ostern 1920 besuchte ich die Volksschule in Frankfurt/Main-Eckenheim. Nach dieser Zeit trat ich in das Reform-Realgymnasium „Musterschule" in Frankfurt/Main über und legte dort im März 1931 die Reifeprüfung ab. Von Ostern 1931 an widmete ich mich an der Universität Gießen dem Studium der Tiermedizin. Dort bestand ich im April 1933 die tierärztliche Vorprüfung. Das 6. und 7. Semester studierte ich an der tierärztlichen Hochschule in Hannover, um im Wintersemester 34/35 wieder nach Gießen zurückzukehren. Dort legte ich im Februar 1936 die tierärztliche Fachprüfung ab. Den vorgeschriebenen Schlachthofkursus erfüllte ich vom 1. April bis 1. Juli am Schlachthof zu Frankfurt/Main. Am 22. Juli erhielt ich die Approbation als Tierarzt. In der Zwischenzeit und bis zum Eintritt als Doktorand in das Veterinärhygienische und Tierseuchen-Institut der Universität Gießen am 1. Dezember 1936 war ich in der Praxis und als Praktikant am Staatlichen Veterinär-Untersuchungsamt in Frankfurt/Main tätig.